УДК 593.195:595.771 (477)

ДВА НОВЫХ РОДА МИКРОСПОРИДИЙ: *AEDISPORA* GEN. N. (CULICOSPORIDA, CULICOSPORIDAE) И *KRISHTALIA* GEN. N. (CULICOSPORIDA, GOLBERGIIDAE) ИЗ КРОВОСОСУЩИХ КОМАРОВ ФАУНЫ УКРАИНЫ

П. Я. Килочицкий

Национальный университет им. Тараса Шевченко, ул. Владимирская, 64, 252033 Киев, Украина

Получено 27 февраля 1997

Два нових роди мікроспоридій: *Aedispora* gen. n. (Culicosporida, Culicosporidae) і *Krishtalia* gen. n. (Culicosporida, Golbergiidae) з кровосисних комарів фауни України. Кілочицький П. Я. — З використанням методів світлової та електронної мікроскопії описані два нових роди: *Aedispora* gen .n. — з *Aedes caspius* (Pall.) та *Krishtalia* gen. n. — з *Culex pipiens* L. Характерним для роду *Aedispora* є формування в личинках комарів 8-спорових спорофорних пухирців, які вміщують виловжено-грушеподібні одноядерні спори з гелікоїдальним поляропластом та анізофілярною полярною трубкою. Мікроспоридії роду *Krishtalia* мають два типи спорогонії, які відбуваються одночасно в личинках, лялечках та імаго комарів. При одному типу спорогонії формуються одноядерні тонкостінні грушеподібні спори з пластинчастим поляропластом та ізофілярною полярною трубкою. При другому — товстостінні, орнаментовані поздовжніми ребрами та шипами на полюсах двоядерні спори з пластинчастим поляропластом та анізофілярною полярною трубкою. Типовий матеріал зберігається в колекції лабораторії екології і токсикології Національного університету імені Тараса Шевченка.
К л ю ч о в і с л о в а: мікроспоридії, кровосисні комарі, нові роди, Україна, *Aedispora*, *Krishtalia*.

Two New Microsporidian Genera: *Aedispora* gen. n. (Culicosporida, Culicosporidae) and *Krishtalia* gen. n. (Culicosporida, Golbergiidae) of the Blood Sucking Mosquitoes from the Ukraine. Kiloczycki P. Ja. — Two new genera of microsporids are described with use of light and electronic microscop (*Aedispora* gen. n. from mosquitoes *Aedes caspius*, and *Krishtalia* gen. n. from mosquitoes *Culex pipiens*). Genus *Aedispora* is characterized by forming of octosporous vesicles in mosquitoes larvae, which contain elongate pyriformed thinwall mononuclear spores with helicoidal polaroplast and ainisophilar polar tube. Two types of sporogony in larvae, pupae and adult mosquitoe characterize genus *Krishtalia*. In one of them mononuclear thinwall pyriformed spores with lamellar polaroplast are formed. In another one oval ornamented thickwall binuclear spores with anisophilar polar tube are formed. The type materials are deposed in the collection of ecology and toxicology laboratory of Kiev National Shevchenkovs University.
K e y w o r d s: microsporidia, *Aedispora*, *Krishtalia*, new genera, blood sucking mosquitoes, Ukraine.

Материал и методика. Проанализирован материал, собранный на протяжении 1973 1992 гг. на территории Украины (Черниговская, Киевская, Донецкая, Харьковская, Херсонская и Николаевская области, а также АР Крым). Препараты для световой и электронной микроскопии изготавливали по общепринятым методикам. Изучена коллекция микроспоридий, хранящаяся в лаборатории микробиометода Всероссийского института защиты растений РАН (ВИЗР, г. Пушкин).

Результаты исследований. Формирование в процессе спорогонии удлиненно-грушевидных тонкостенных одноядерных спор с пузырчатым (геликоидальным) поляропластом позволяет отнести микроспоридию, выделенную из двух подвидов комара *Aedes caspius* Pall., к семейству Culicosporidae Weiser, 1977 отряда Culicosporida Issi, 1986. Это семейство включает 4 рода микроспоридий, паразитирующих у кровососущих двукрылых: *Culicospora* Weiser, 1977, *Cougourdella* Hesse,1935, *Pyrotheca* Hesse,1935 и *Bohuslavia* Larsson, 1985 (Исси и др., 1991). От перечисленных родов, а также от комариных микроспоридий рода *Amblyospora*, паразитирующих у циклопов, исследуемая микроспоридия отличается наличием анизофиллярной полярной трубки, что дает полное право отнести ее к новому роду.

Род *Aedispora* Kiloczycki, gen. n.
Типовой вид *A. dorsalis* Kiloczycki, gen. et sp. n. из *Aedes caspius dorsalis* Mg.

Микроспоридии с тонкостенными грушевидными спорами, геликоидальным поляропластом, одним ядром и анизофиллярной полярной трубкой. В конце спорогонии формируется неустойчивый спорофорный пузырек, содержащий чаще всего 8 спор.

Aedispora dorsalis Kiloczycki, gen. et sp. n.
Thelohania sp. Килочицкий, Шеремет, 1978; *Aedispora caspiusi* nom. nud., Овчаренко, Килочицкий, Пушкарь, 1987.

М а т е р и а л. Гапантотип препараты 0864 (водный, тушевый), 0865 (окрашенный, постоянный) из личинки *A. c. dorsalis* (проба 113, залита в эпоновую смесь), электронномикроскопические негативы 7328-7330 хранятся в коллекции лаборатории экологии и токсикологии Национального университета им. Тараса Шевченко.

Х о з я и н и л о к а л и з а ц и я: *Aedes caspius dorsalis* Mg. (типовой хозяин), личинка IV стадии; жировое тело.

Т и п о в о е м е с т о о б н а р у ж е н и я: долина р. Бахмут Донецкой обл., 8.04. 1992 г., открытый временный водоем.

О п и с а н и е. Споронты крупные (20–28 мкм), округлые или овальные с жидкой плазмой, узким слоем окружающей большие ядра. Спорогония происходит путем последовательных бинарных делений и завершается образованием 8 споробластов и спор (рис. 1; 5, *А–Д*).

Зрелые удлиненно-грушевидные споры размером 10,0–14,4×3,5–4,4 мкм располагаются группами по 8 (рис. 5, *Г*). Оболочка спорофорного пузырька разрушается к моменту созревания спор. Мукокаликс отсутствует.

Ультратонкое строение. Обработка материала для электронной микроскопии приводит к некоторому уменьшению линейных параметров спор — 6,0–9,0×3,6–3,8 мкм. Зрелые споры окружены относительно тонкой гладкой оболочкой. Толщина экзоспоры 40–60 нм, эндоспоры — 170–210 нм. От половины до двух третей объема споры занимает пузырчатый (геликоидальный) поляропласт (рис. 2; 5, *Е*). У живых и окрашенных спор он просматривается как оптически прозрачная зона (рис. 1, *п, р*; 5, *Г, Д*).

Полярная трубка анизофиллярная, образует в споре 11–15 (чаще — 13) витков, из которых 5–7 витков (чаще — 6) составляют базальный и 6–8 (чаще — 7) —

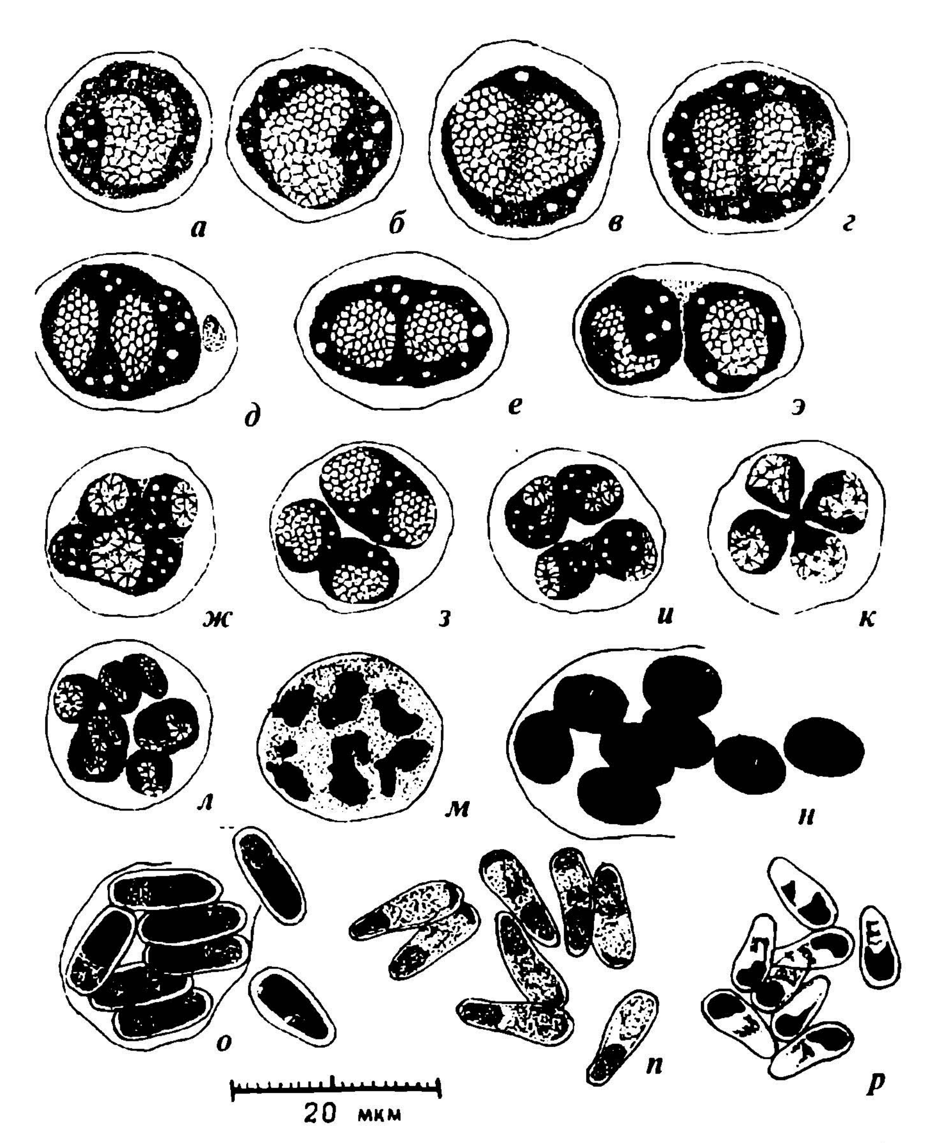


Рис. 1. Стадии развития *A. dorsalis* gen. et sp. n.: *а, б* — одноядерные споронты; *в*–*э* — 2-ядерные споронты; *ж*–*к* — 4-ядерные споронты; *л* — 6-ядерный споронт; *м* — 8-ядерный споронт; *н* — споробласты; *о* — незрелые споры; *п* — живые споры; *р* — окрашенные споры.

Fig. 1. Development stages of the *A. dorsalis* gen. et sp. n.: *а, б* — mononuclear sporonts; *в*–*э* — 2-nuclear sporonts; *ж*–*к* — 4-nuclear sporonts; *л* — 6-nuclear sporont; *м* — 8-nuclear sporont; *н* — sporoblasts; *о* — young spores; *п* — living spores; *р* — stained spores.

дистальный отделы трубки. Угол наклона витков полярной трубки к продольной оси споры — 60. Диаметр трубки на базальном участке — 250 нм, на дистальном — 150 нм. Крупное ядро расположено в задней трети споры.

Внешние признаки заражения и патологические изменения тканей хозяина типичны для микроспоридиозов жирового тела личинок комаров. Экстенсивность инвазии личинок IV стадии — 6–15% при генерализованном поражении грудных и брюшных сегментов тела.

Дифференциальный анализ. Наличие анизофиллярной полярной трубки в 1-ядерных спорах *A. dorsalis* четко отличает данную микроспоридию от других представителей сем. Culicosporidae, а также от внешне схожих микроспоридий из циклопов и от 2-ядерных спор *Amblyospora* из имаго комаров.

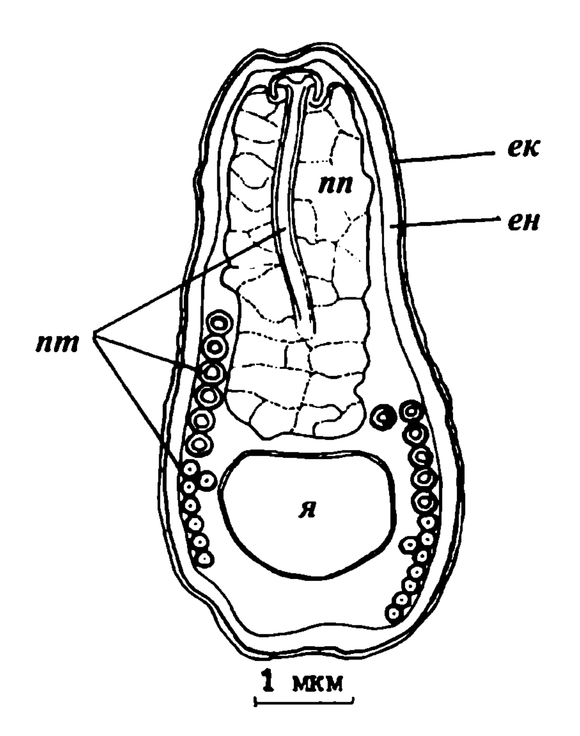


Рис. 2. Продольный ультратонкий срез через спору *A. dorsalis* gen. et sp. n.: *ек* — экзоспора; *ен* — эндоспора; *пп* — поляропласт; *пт* — полярная трубка; *я* — ядро.

Fig. 2. Logitudinal ultrathin section trough *A. dorsalis* gen. et sp. n. spore: *ек* — exospore; *ен* — endospore; *пп* — polaroplast; *пт* — polar tube; *я* — nucleus.

Распространение. Микроспоридия обнаружена практически на всей территории Украины, за исключением Закарпатья и Крыма, у личинок, населяющих временные и полупостоянные водоемы.

Aedispora sp.

Thelohania sp. Килочицкий, 1977. *Aedispora caspiusi*, nom. nud. Овчаренко, Килочицкий, Пушкарь, 1987.

Материал. Препараты 0241 (водный, тушевый) и 0242 (окрашенный постоянный) хранятся в коллекции лаборатории экологии и токсикологии Национального университета им. Тараса Шевченко.

Хозяева и локализация: *Aedes caspius caspius* Pall. и *A. c. dorsalis*, личинки IV стадии; жировое тело.

Место обнаружения: окрестности г. Голая Пристань Херсонской обл., 20.08.1974 г.; открытый временный водоем.

Описание. Споронты размером 18–22 мкм, с крупным ядром, окруженным тонким слоем разжиженной цитоплазмы. Спорогония происходит путем последовательного деления клеток спороптов с формированием 8 (реже — 2- или 4) споровых спорофорных пузырьков. Оболочки пузырьков нестойкие.

Форма зрелых спор варьирует от овальной до удлиненно-грушевидной, с преобладанием грушевидной. Особенно значительные размерные вариации наблюдаются у спор, формирующихся в условиях воздействия субоптимальных температур среды обитания хозяев. Размах линейных параметров спор при этом составляет 6,3–16,3×3,2–7,5 мкм при типичных размерах 6,9–12,5×3,2–5,0 мкм. Длина полярной трубки, произвольно выброшенной в дистиллированной воде, — до 10 мкм.

Симптомы заражения и патогенез хазяев типичны для микроспоридиозов жирового тела личинок комаров.

Сравнительный анализ. Наибольшим сходством данная микроспоридия обладает с выше описанной *A. dorsalis*. При отсутствие сведений об ультратонком строении анализируемой микроспоридии наиболее важными отличительными признаками являются особенности спорогонии и морфология зрелых спор.

Распространение. Пораженные микроспоридией личинки комаров зарегистрированы летом в открытых временных и полупостоянных водоемах Полесской, Лесостепной и Степной зон Украины.

Формирование в одном хозяине одновременно двух типов спор (тонкостенных 1-ядерных и толстостенных 2-ядерных) дает основание отнести микроспоридию, обнаруженную у комаров рода *Culex*, к семейству Golbergiidae Issi, 1986 отряда Culicosporida Issi, 1986. Два рода этого семейства (*Golbergia* и *Hazardia*) па-

разитируют у кровососущих комаров, третий — *Simuliospora* — у мошек (Исси и др. 1991). Для этих родов характерно наличие в 1-ядерных спорах крупнокамерного (геликоидального) поляропласта. У обнаруженной нами микроспоридии оба типа спор имеют пластинчатый поляропласт, что является основанием для выделения нового рода.

Род *Krishtalia* Kiloczycki, gen. n
Типовой вид *K. pipiens* Kiloczycki, gen. et sp. n. из *Culex pipiens pipiens* L.

Микроспоридии с двумя типами спорогонии, образующие в личинках, куколках или имаго комаров два типа спор: 1-ядерные тонкостенные и 2-ядерные толстостенные с пластинчатыми поляропластами. Полярная трубка 1-ядерных спор изофиллярная, 2-ядерных — анизофиллярная.

Krishtalia pipiens Kiloczycki, gen. et sp. n.

Weiseria spinosa Golberg, 1971. Килочицкий, 1977, *Diffingeria* sp. Овчаренко, Килочицкий, Пушкарь, 1987.

Материал. Гапантотип препараты 0600 (водный, тушевый), 0601 (окрашенный, постоянный) из личинки *C. p. pipiens* (проба 10-88, залита в эпоновую смесь); электронномикроскопические негативы 001741-001751 и паратипы (аналогичные препараты из проб 25-9, 68-0 и 140) хранятся в коллекции лаборатории экологии и токсикологии Национального университета им. Тараса Шевченка.

Хозяева и локализация: *Culex pipiens pipiens* L. (типовой хазяин), *C. p. molestus* Forsk. (искусственное заражение) и *C. theileri* Theob., личинки, куколки и имаго обоих полов; жировое тело личинок, полость тела имаго.

Типовое место обнаружения: территория с. Сибереж Черниговской обл., 19.09.1988 г., полупостоянный открытый полисапробный водоем.

Описание. Стадии мерогонии представлены мелкими 1- и 2-ядерными меронтами размером 5,0×2,5–3,8 мкм и диплокарионами диаметром 5 мкм. Скопления меронтов внутри пораженных клеток достигают 20–30 мкм в диаметре (рис. 3; 6, *А–В*).

Спорогония путем почкования. Формированию споробластов 1-ядерных спор предшествует митотическое деление, напоминающее эндодиогению кокцидий (рис. 3, *15–16*). В конце спорогонии образуется два типа спор, хорошо дифференцирующиеся под световым микроскопом. Живые 1-ядерные грушевидные

Таблица 1. Морфометрические характеристики спор *K. pipiens*

Table 1. Morphometrical characteristics of the *K. pipiens* spores

Код пробы	Размеры спор, мкм		Количество витков ПТ	Диаметр ПТ, нм		Толщина, нм	
	живых	фикс. для ЭМ		БО	ДО	ЭКС	ЭН
10-88	5,0-6,3×1,9–2,5	4,6–5,0×1,5–2,3	10	—	130–170	30–80	50–80
	6,0-6,5×2,3-2,5	4,5-5,0×1,7–2,5	4,5+5,5	155	110	170-500	300
25-9	4,0-5,0×2,3	—		—	—		
	5,0-5,6×2,3-2,5		—	—	—	—	
68-0	5,0-6,0×2,4-2,5		9-10		120-130		
	4,4–5,0×2,5	—	3+5	170	130	110-310	90
140	5,0–5,8×2,4–2,5	3,5-4,2×1,7–1,8	9-10	—	90–110	50	70
	5,0–6,3×2,3–2,5	—	—	—	—	—	

Примечание: ПТ — полярная трубка; БО — базальный отдел; ДО — дистальный отдел; ЭКС экзоспора; ЭНС эндоспора; n — количество ядер спore; ЭМ — электронная микроскопия.

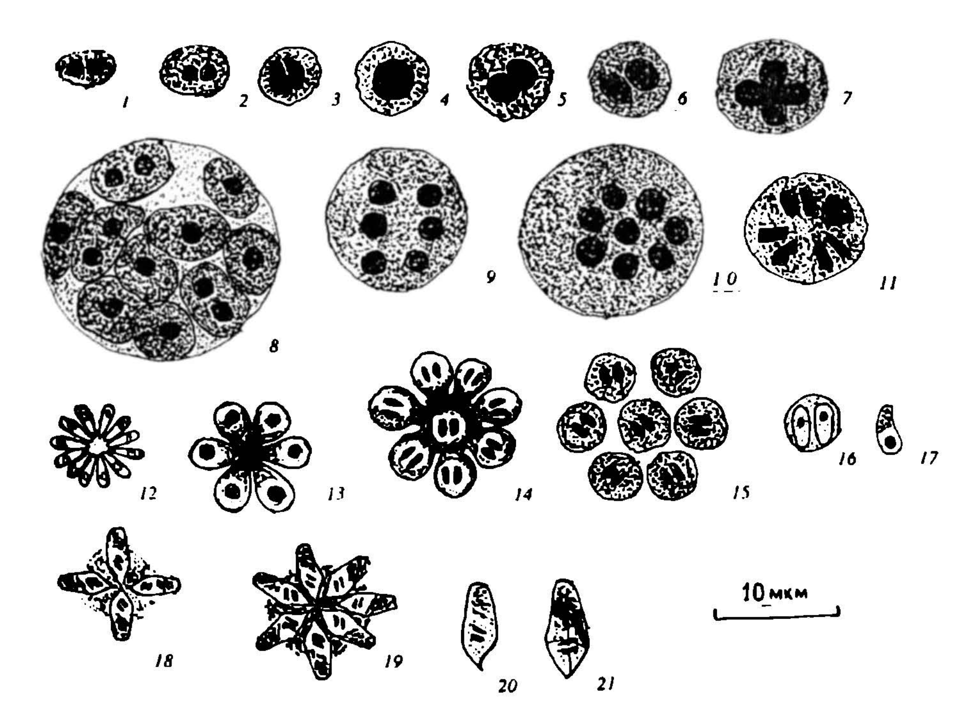


Рис. 3. Стадии развития *K. pipiens* gen. et sp. n.: *1 3* меронты; *4 11* споронты; *12 16* образование одноядерных спор; *17* 1-ядерная спора; *18 21* 2-ядерные споры.

Fig. 3. Development stages of the *K. pipiens* gen. et sp. n.: *1 3* meronts; *4 11* sporonts; *12 16* genesis of the mononuclear spores; *17* 1-nuclear spore; *18 21* 2-nuclear spores.

споры имеют заднюю вакуоль, исчезающую после подсушивания (тушевые препараты). Мукокаликс отсутствует. Размеры: живых спор — 4,0–6,3×1,9–2,5 (чаще — 5,5×2,3) мкм; макроспор — 6,5–8,7×2,2–2,8 мкм; фиксированных метанолом спор — 5,0–6,3×2,3–2,4 (чаще — 5,4×2,4) мкм (табл. 1). Длина произвольно выброшенной полярной трубки — 30–45 мкм. Споры хорошо флотируются. При

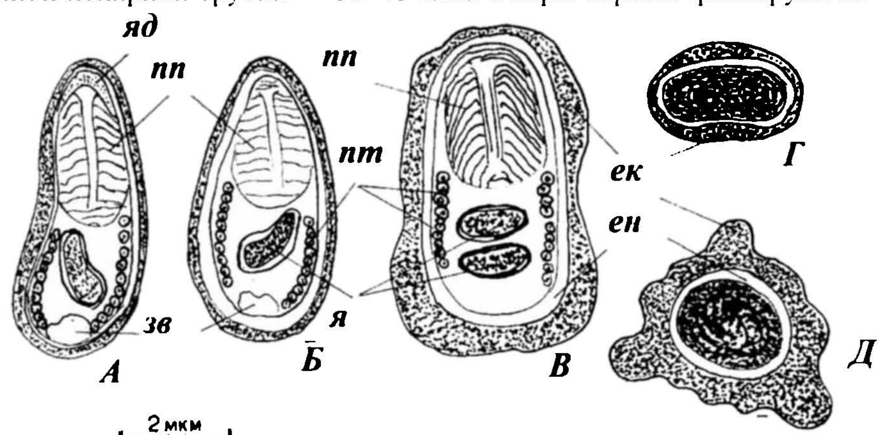


Рис. 4. Продольные и поперечные срезы спор *K. pipiens* gen. et sp. n.: *А Б* продольные срезы одноядерных спор; *В* продольный срез 2-ядерной споры; *Г, Д* поперечные срезы спор (*Г* одноядерной, *Д* 2-ядерной); *ек* экзоспора; *ен* эндоспора; *зв* задняя вакуоль; *пп* поляропласт; *пт* полярная трубка; *я* ядро; *яд* якорный диск.

Fig. 4. Logitudinal section and transsection of *K. pipiens* gen. et sp. n. spores: *А Б* logitudinal section of mononuclear spores; *В* logitudinal section of 2-nuclear; *Г, Д* transsection of spores (*Г* mononuclear, *Д* 2-nuclear); *ек* exospore; *ен* endospore; *зв* posterior vacuole; *пп* polaroplast; *пт* polar tube; *я* nucleus; *яд* anchoring disc.

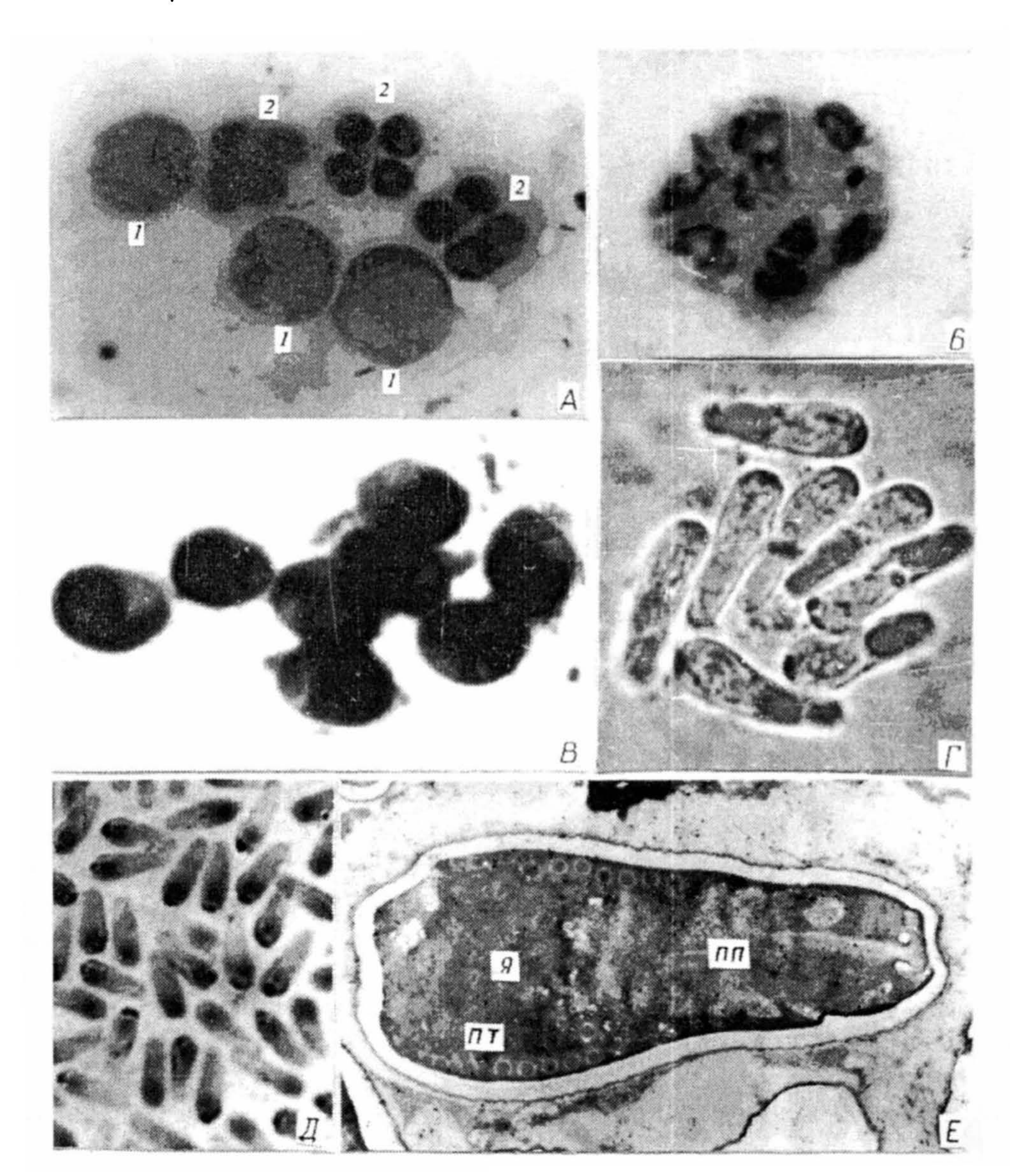


Рис. 5. *A. dorsalis* gen. et sp. n.: *А* — споронты (*1* — одноядерные, *2* — 4-ядерные), ×1000; *Б* — 8-ядерный споронт, ×2000; *В* — споробласты, ×2000; *Г* — зрелые живые споры, ×1500; *Д* — зрелые споры, окрашенные по Романовскому-Гимза, x1000; *Е* — ультратонкий продольный срез зрелой споры, ×10000; *пп* — поляропласт; *пт* — полярная трубка; *я* — ядро (*А*-*Д* — световая микроскопия, *Е* — электронная микроскопия).

Fig. 5. *A. dorsalis* gen. et sp. n.: *А* — sporonts (*1* — mononuclear, *2* — 4-nuclear), ×1000; *Б* — 8-nuclear sporont, ×2000; *В* — sporoblasts, ×2000; *Г* — mature spores, fresh, ×1500; *Д* — mature spores, stained with Giemsa, ×1000; *Е* — ultrthin section mature spore, ×10000; *пп* — polaroplast; *пт* — polar tube; *я* — nucleus; (*А*-*Д* — light microscopy; *Е* — electron microscopy).

окраске по Романовскому-Гимза передняя треть спор (поляропласт) выглядит оптически прозрачной.

Ультраструктура 1-ядерных спор. Поперечное сечение спор имеет в передней и задней третях форму круга, а посредине — овала. Этим объясняются два варианта формы спор на продольных срезах — яйцевидная и грушевидная (туфлеобразная) (рис. 4, *А*, *Б*; 6, *Г*). Толщина оболочки спор равномерно возрастает от 60 нм (передний полюс) до 325 нм (у заднего полюса). Экзоспора примерно одной толщи-

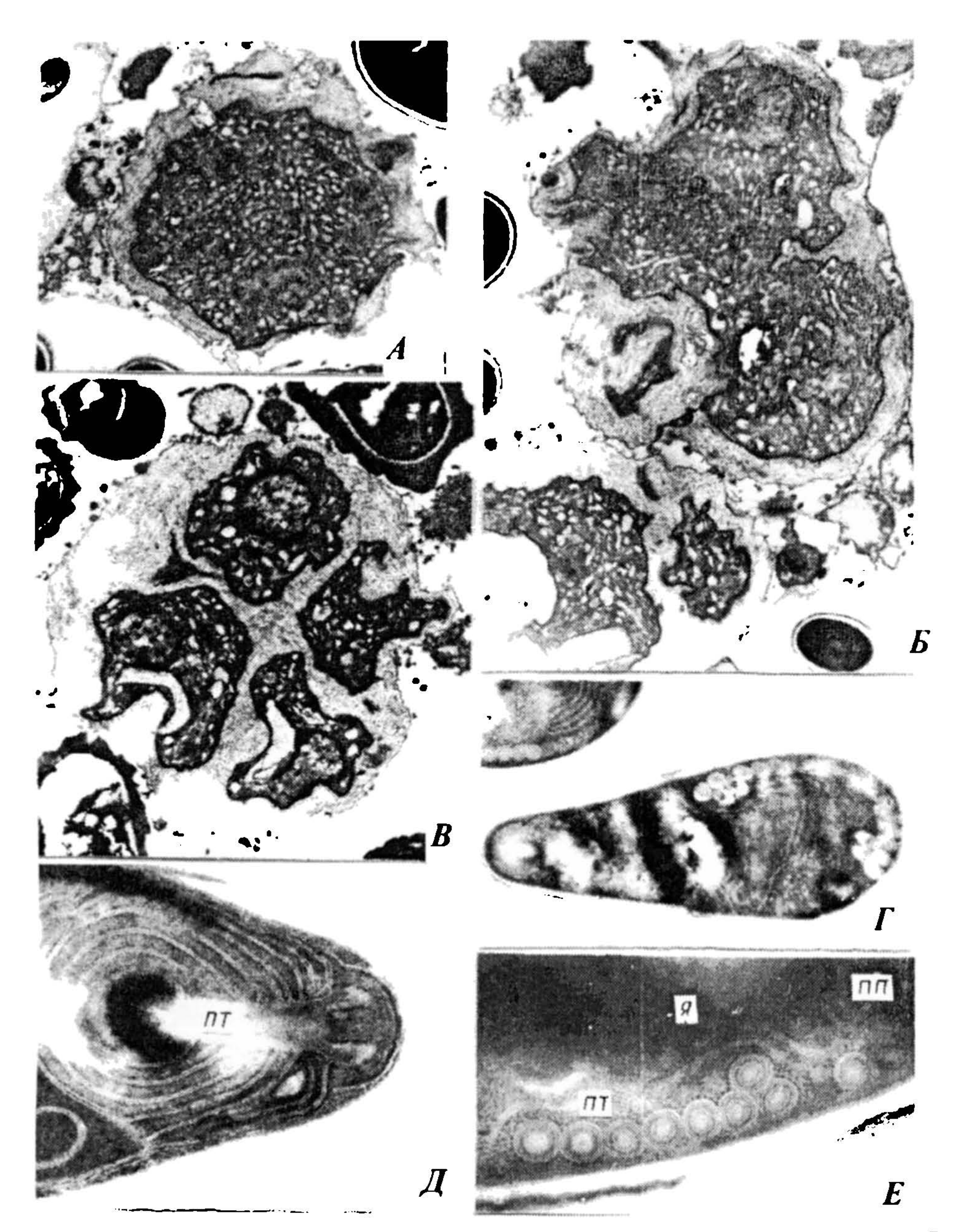


Рис. 6. *K. Pipiens* gen. et. sp. n.: *А* — одноядерный споронт,×5 000; *Б* — делящиеся споронты,×7 000; *В* — 4-ядерный споронт, ×7 000; *Г* — продольный срез одноядерной споры, ×15 000; *Д* — апикальный полюс одноядерной споры, ×21 000; *Е* — поперечное сечение через витки полярной трубки одноядерной споры, ×25 000 (*пп* — поляропласт; *пт* — полярная трубка; *я* — ядро).

Fig. 6. *K. Pipiens* gen. et. sp. n.: *А* — mononuclear sporont, ×5 000; *Б* — dividing sporonts, ×7 000; *В* 4-nuclear sporont, ×7 000; *Г* — logitudinal sections of the 1-nuclear spore, ×15 000; *Д* — apical pol of the mononuclear spore, ×21 000; *Е* — trans verse section from polar tub coiles of the mononuclear spore, ×25 000 (*пп* — polaroplast; *пт* — polar tube; *я* — nucleus).

ны с эндоспорой (табл. 1). Якорный диск глубокий, чашеобразный. Пластинчатый поляропласт занимает переднюю половину объема споры (рис. 6, *Д*). Изофиллярная полярная трубка образует в споре 9–10 (чаще — 10) колец (рис. 6, *Е*). Угол наклона витков полярной трубки к продольной оси споры — 30–400. Грушевидное ядро расположено в задней трети споры над задней вакуолью (рис. 4, *А*, *Б*).

Второй тип спорогонии заканчивается образованием толстостенных билатерально симметричных двуядерных спор. После созревания они некоторое время остаются частично погруженными в слизистую массу, соединяясь между собой особыми (слизистыми?) тяжами, отходящими от шипов на заднем полюсе спор (рис. 3, *18, 19*). Удельный вес спор выше удельного веса воды. Размеры: живых спор — 4,4–6,5×2,3–2,5 (чаще 6,3×2,5) мкм; фиксированных метанолом — 5,6–6,3×2,5–2,8 (чаще — 5,9×2,5) мкм. Слегка уплощенные споры несут на поверхности 3 продольных гребня. По Романовскому-Гимза содержимое спор почти не окрашивается за исключением двух хорошо различимых ядер.

Ультраструктура 2-ядерных спор. Мощная оболочка спор состоит из эндоспоры толщиною 90–300 нм и волнистой экзоспоры толщиною 80 нм на переднем полюсе и 110–500 нм — по бокам и у заднего полюса. Хорошо различимые под световым микроскопом ребра и гребни на поверхности спор представляют собою складки экзоспоры высотою 400–700 нм (рис. 4, *Д*).

Пластинчатый поляропласт занимает переднюю половину споры и состоит из тонких плотно уложенных пластин, отходящих от полярной трубки под прямым углом и опускающихся к заднему полюсу почти параллельно продольной оси. Анизофиллярная полярная трубка уложена в споре в 8–10 (чаще — 10) колец, из которых 3–5 (чаще — 4) образуются базальным отделом трубки. Угол наклона витков полярной трубки к продольной оси споры — 47–570. Два овальных ядра лежат рядом в задней трети споры (рис. 4, *В*).

Инвазированные *K. pipiens* личинки и куколки имеют типичные внешние отличия, характерные для микроспоридиозов жирового тела. Больные имаго отличаются пониженной активностью, а иногда — сильно раздутым брюшком. Экстенсивность инвазии природных популяций составляла 5–10% при очень высокой интенсивности заражения. В опытах по лабораторному заражению *C. p. molestus* экстенсивность инвазии личинок IV стадии достигала 60%. Соотношение количества 1-ядерных и 2-ядерных спор изменяется в сторону увеличения числа 2-ядерных в ряду фаз: личинки-куколки-имаго. Возможно, преобладание более стойких (2-ядерных) спор у имаго связано с необходимостью сохранения жизнеспособности микроспоридий при прохождении через кишечник насекомоядных животных.

Дифференциальный анализ. Два рода семейства Golbergiidae (*Golbergia* и *Hazardia*) известны как паразиты комаров рода *Culex*. Основным отличительным признаком описываемого вида (как и рода) является наличие пластинчатого поляропласта у 1-ядерных спор.

Распространение. В пределах Украины микроспоридия регистрировалась: у комаров *C. pipiens* — в зонах Полесья и Лесостепи, у *C. theileri* — на южном берегу Крыма. Во всех случаях инвазированные личинки обитали в полисапробных антропогенных водоемах.

Иссu И. В., Кадырова М. К., Пушкарь Е. Н., Ходжаева Л. Ф., Крылова С. В. Микроспоридии мошек (определение и краткое описание видов микроспоридий мировой фауны). — Ташкент: Фан, 1991. — С. 124.

Килочицкий П. Я. К изучению микроспоридий — паразитов кровососущих комаров юга Украины // Вестн. зоологии. — 1977. — № 4. — С. 71–75.

Килочицкий П. Я., Шеремет В. П. Микроспоридии кровососущих комаров севера Украины // Вестн. зоологии. — 1978. — № 1. — С. 62–66.

Овчаренко Н. А., Килочицкий П. Я., Пу[illegible] Е. Н. Микроспоридии и микроспоридиозы гидробионтов Украины (состояние изученности, практическое значение, перспективы) // Паразиты и др. симбионты беспозвоночных и рыб. — Киев: Наук. думка, 1987. — С. 64–88.